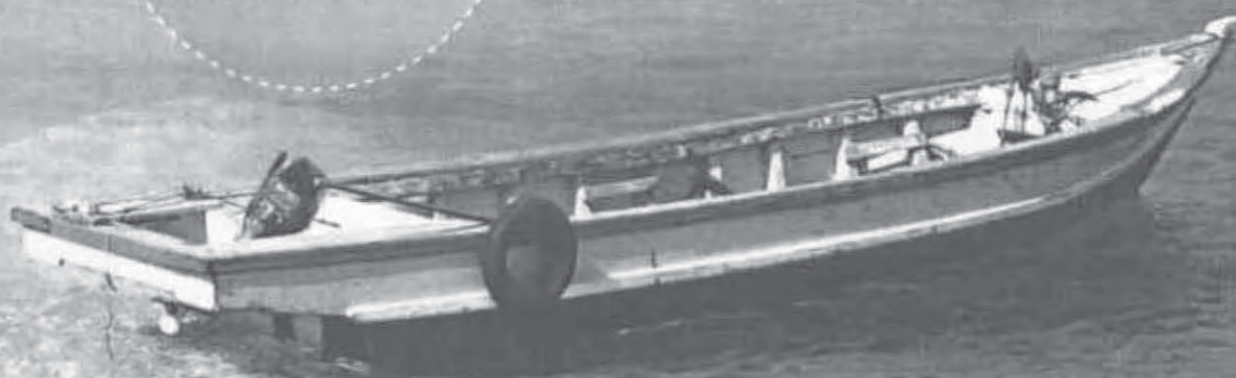




# IKATAN APOTEKER INDONESIA

“  
Improving  
an Accessible  
and Trusted  
Pharmacist



Ulang Tahun, 100th Anniversary

**ISSN: 2541-0474**



**Banten, 6-8 September 2017**

INDONESIA CONVENTION EXHIBITION (ICE)

Jalan BSD Grand Boulevard Raya No.1,  
BSD City Tangerang, Banten, 15339



## **SCIENTIFIC COMMITTEE**

### **Steering Committee**

Prof. Dr. Zulies Ikawati, Apt

Dr. Dra. R.R. Christina Avanti M.Si., Apt.

### **Ketua**

Dr. Susi Ari Kristina, M.Kes, Apt

### **Sekretaris**

Marlita Putri Ekasari, MPH, Apt

### **Anggota**

Yusransyah, S.Farm., M.Sc., Apt

Atika Hanum Faliyah

## KATA PENGANTAR EDITOR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa yang terus mencurahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua, sehingga Rapat Kerja Nasional dan Pekan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia 2017 (Rakernas PIT 2017) dengan tema "*Improving an Accessible and Trusted Pharmacist*", dapat terlaksana dengan baik dan Prosiding ini dapat diterbitkan.

Seminar ini diikuti oleh praktisi maupun akademisi dari seluruh Indonesia, yang telah membahas lima bidang kajian spesifik yaitu bidang Farmakologi dan Toksikologi (FT), Farmasetika dan Teknologi Farmasi (FF), Farmasi Bahan Alam dan Obat Tradisional (FA), Farmasi Klinik, Farmasi Sosial, Pendidikan dan Regulasi (FK) dan Kimia Medisinal, Biologi Molekuler dan Bioteknologi (KM). Kelima bidang tersebut pada kegiatan ini memberikan pemikiran dan solusi untuk memperkuat peran apoteker Indonesia dalam menghadapi perkembangan di era global.

Akhir kata, kami mengucapkan terimakasih kepada Pemakalah, Peserta, Panitia, dan Sponsor yang telah berupaya mensukseskan Rakernas PIT 2017 ini. Semoga Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa meridhoi semua usaha baik kita.

Yogyakarta, 11 September 2017  
Steering Committee Ilmiah,



Prof.Dr. Zulieslkawati, Apt

## DAFTAR ISI

|   |           |
|---|-----------|
| SCIENTIFIC COMMITTEE .....  | ii        |
| KATA PENGANTAR EDITOR .....   | iii       |
| DAFTAR ISI .....  | iv        |
| <b>FARMAKOLOGI DAN TOKSIKOLOGI (FT) .....</b>   | <b>1</b>  |
| Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Andong Merah ( <i>Cordyline fruticosa</i> (L.) A. Chev) Terhadap Hemostasis pada Mencit Putih ( <i>Mus musculus</i> ) .....   | 2         |
| Eka Desnita .....   | 2         |
| Efek Antiproliferasi dan induksi Cell Cycle Arrest Ekstrak Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> ) Terhadap Sel Fibroblast NIH3T3 Sebagai Kandidat Anti Keloid .....                                     | 8         |
| Nunuk Aries Nurulita, Elza Sundhani, Nur Fina Mafazah .....   | 8         |
| Uji In Vivo Efektivitas Cuka Madu dengan Ultrasound untuk Mengurangi Selulit .....  | 14        |
| Lucia Endang Wuryaningsih, Annisa Taufik, Lidya Karina, Kristanto Wenny Yunitasari .....  | 14        |
| Aktifitas Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Candida albicans</i> ..... | 21        |
| Parawansah, Nelly Herfina Dahlan, Lilik Zulfiana Sulfa, Nuralifah .....   | 21        |
| Uji Antispermatoogenesis Ekstrak Etanol Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) dan Gambaran Histopatologik Testis dan Jantung Tikus Jantan .....  | 28        |
| Dina Masturah, Moch. Saiful Bachri .....  | 28        |
| <b>FARMASETIKA DAN TEKNOLOGI FARMASI (FF) .....</b>   | <b>35</b> |
| Optimasi Formula Sediaan EMZEBA (Emulsi Minyak Zaitun dan Ekstrak Buah Alpukat) Sebagai Antikolesterol dengan Metode <i>Factorial Design</i> .....  | 36        |
| Rahmat Rinaldy, Arinda Rachmawati, Natasha Nurul Husna, Linda Puspita, Suprpto .....  | 36        |
| Variasi Asam Tartrat dan Asam Sitrat sebagai Basis Asam dalam Formulasi Granul <i>Effervescent</i> Ibuprofen .....  | 41        |
| Yedi Herdiana, Marline Abdassah, dan Assanette .....  | 41        |
| <b>FARMASI BAHAN ALAM DAN OBAT TRADISIONAL (OT) .....</b>   | <b>46</b> |
| Aktivitas Antibakteri menggunakan Metode Difusi Cakram terhadap Ekstrak Etanol 70% Daun Afrika ( <i>Vernonia amygdalina</i> Del.) .....   | 47        |
| Greesty Finotory Swandiny, Shirley Kumala .....   | 47        |
| Penambahan Jus Kubis Merah ( <i>Brassica Oleracea</i> L. Var. <i>Capitata</i> L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan pada Beberapa Jus Buah .....   | 51        |
| Hindra Rahmawati, Aan Firminda .....  | 51        |

|   |     |
|---|-----|
| Potensi Antihiperlidemia Obat Tradisional Khas Suku Muna Lansau Berdasarkan Parameter LDL .....   | 56  |
| Sunandar Ihsan, Fitriani Sonaru, Hikmah Satriani, Isna Wahyuni, Melisa Ardianti .....   | 56  |
| Efektivitas Ekstrak Buah Belimbing Manis ( <i>Averrhoa carambola</i> L.) Sebagai Antihiperlipidemia dan Menghambat Pembentukan Aterosklerosis Secara In Vivo .....                              | 63  |
| Nanang Yunarto, M.Wien Winarno .....  | 63  |
| <br><b>FARMASI KLINIK, FARMASI SOSIAL, PENDIDIKAN, DAN REGULASI (FK) 71</b>   |     |
| Efek Neutropenia Kemoterapi Kombinasi Golongan Taxane – Platinum Setelah Siklus Ketiga Pada Pasien Kanker Ginekologi .....  | 72  |
| Anugraheny Ayu Paramita, Yulistiani, Muhammad Yahya .....   | 72  |
| Pengaruh N-asetilsistein Terhadap Penurunan Kadar Homosistein dan Derajat Proteinuria (Studi pada Pasien Rawat Jalan Dengan Penyakit Ginjal Kronik Non DM yang Mendapat Terapi Acei/Arbs) ..... | 80  |
| Umi Fatmawati .....   | 80  |
| Karakteristik dari Pasien TB MDR Baru di Rumah Sakit Soetomo dan Efek Samping yang Ditemui pada Tahun 2016 .....  | 88  |
| Umi Fatmawati .....   | 88  |
| Efektivitas Fosfomisin Pada Pencegahan Infeksi Luka Operasi Pasien Cedera Otak Tertutup Pasca Kraniotomi .....  | 95  |
| Nuril Auliya Husna, Yulistiani, Joni Wahyuhadi, Ni Made Mertaniasih .....   | 95  |
| Profil Penggunaan Antibiotik Pasien Rawat Inap Dewasa di Sebuah Rumah Sakit di Surabaya .....   | 102 |
| Emilia Sidharta, Adji Prayitno, Eko Setiawan .....  | 102 |
| Pelaksanaan dan Manfaat <i>Self-Administration</i> program di Bangsal Kardiovaskular di Salah Satu Rumah Sakit Pendidikan .....   | 113 |
| Sherly Meilanti, Victoria Collings, Imran Hafiz, Rob Horne .....  | 113 |
| Pemantauan Terapi Obat Sesuai Standar Permenkes RI Nomor 58 Tahun 2014 di Rumah Sakit X Tangerang .....   | 120 |
| Febbyasi Megawaty, Shirly Kumala, Sesi A. Keban .....   | 120 |
| Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Neonatus Rawat Inap di Rsup Fatmawati Berdasarkan PCNE dan Gyssens Periode : 1 September – 30 November 2014 .....                                    | 126 |
| Nurwulan Adi Ismaya, Yusi Anggriani, Alfina Rianti .....  | 126 |
| Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Sepsis Neonatorum .....  | 134 |
| Putu Rika Veryanti, Alfina Rianti, Iin Sugianti .....   | 134 |
| Analisa Penggunaan Antibiotik Pada Kasus <i>Apendisitis akut simple</i> Periode Januari-Juni 2017 di Bangsal bedah RS Bethesda .....  | 139 |
| Andriana Hutami Majestika, Ana Puspita Dewi .....   | 139 |



|   |     |
|---|-----|
| Budaya Suku Dani Dalam Mengimplementasikan Program Keluarga Berencana di Kabupaten Jayawijaya Provinsi Papua (Studi Kasus) .....  | 144 |
| Saparuddin Latu, Indar, Alimin Maidin, Darmawansyah .....   | 144 |
| Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Tingkat Persepsi dan Pengetahuan Ibu Dalam Pemberian Suplemen Makanan Pada Anak Prasekolah di Kecamatan Cangkuang Kabupaten Bandung .....                                     | 163 |
| Akhmad Priyadi, Siti Nurhasanah, Agnes Fany Kasih Halawa .....  | 163 |
| Tinjauan Regulasi Obat Wajib Apotek .....   | 168 |
| Riza Ridho Dwi Sulistyo .....   | 168 |
| Gambaran Pengetahuan Farmasis Indonesia tentang <i>Sistemic Lupus Erythematosus</i> .....   | 172 |
| M.Caecilia N.Setiawati, Catharina Tri Anni .....  | 172 |
| Pengaruh Penyuluhan Penggunaan Antibiotik Terhadap Tingkat Pengetahuan Masyarakat di Kampung Salahaur RW 09 Rangkasbitung .....   | 177 |
| Sofi Nurmaya Stiani, Yusransyah, Fani Faulika Sari .....  | 177 |
| Gambaran Pengetahuan Masyarakat Tentang Pencegahan Gema Cermat (Gerakan Masyarakat Cerdas Menggunakan Obat) dan Perilaku Penggunaan Obat di Kelurahan Cipadung Kidul Kecamatan Panyileukan Kota Bandung ..... | 183 |
| Rahmat Santoso, E. Sutrisno, A. F. Fadhlila .....   | 183 |
| Gambaran Pengetahuan Masyarakat Tentang Penerapan Program DAGUSIBU (Dapatkan, Gunakan, Simpan, Dan Buang) Obat dan Perilaku Penggunaan Obat di Desa Nanjung Mekar Kec. Rancaekek Kab. Bandung .....           | 187 |
| Weking, J.M., Nurfitriya, R. S., Wulandari, H <sup>3</sup> .....  | 187 |
| Hubungan Tingkat Sosial Ekonomi Keluarga Terhadap Perilaku Merokok Pasien Skizofrenia yang di Rawat di Rumah Sakit Khusus Jiwa Dharma Graha Periode Januari – Maret Tahun 2012 .....                          | 192 |
| Oktoba Zulpakor, Musnelia Lili, Tanjung Savitri Ira .....   | 192 |
| Gambaran Penyebab dan Kerugian karena Obat Rusak dan Kedaluarsa di Apotek Wilayah Kota Yogyakarta .....   | 206 |
| Bondan Ardiningtyas, Dwi Syahreni .....   | 206 |
| Analisis Tingkat Kepuasan Pasien Terhadap Kualitas Pelayanan Instalasi Farmasi pada Pasien Rawat Jalan di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Tangerang Tahun 2016 .....   | 214 |
| Fajrin Noviyanto, Endang Sunariyanti, Mia Amalia .....  | 214 |
| Evaluasi Kualitas Pengelolaan Vaksin di Dua Puskesmas Kota Yogyakarta .....   | 219 |
| Diesty Anita Nugraheni, Dian Medisa, Nurhidayati .....  | 219 |
| Profil Penggunaan Antibiotik dan Peta Kuman di Ruang Rawat Inap Rs Husada Utama Surabaya .....  | 228 |
| Rika Yulia, Gita Yuaraningtyas, Heru Wiyono .....   | 228 |

|  |     |
|--|-----|
| Hubungan Pengetahuan dan Sikap Pengunjung Apotek TerhadapKebutuhan Informasi Obat di Apotek X Jakarta Pusat..... | 238 |
|--|-----|

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| Ainun Wulandari, Kaharudin ..... | 238 |
|----------------------------------|-----|

#### **KIMIA MEDISINAL, BIOLOGI MOLEKULER DAN BIOTEKNOLOGI (KM) .242**

|   |     |
|---|-----|
| Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Secara <i>In Silico</i> Senyawa 1-Benzil-3-benzoilurea dan Analognya Sebagai Antikanker Melalui Hambatan Reseptor ALK ..... | 243 |
|---|-----|

|   |     |
|---|-----|
| Farida Suhud, Bayu Sugio Wibowo, Siswandono ..... | 243 |
|---|-----|

|   |     |
|---|-----|
| Penetapan Kadar Fosfor (P) Dalam Buah Pisang ( <i>Musa Paradisiacal.</i> ) Dengan Menggunakan Spektrofotometri Sinar Tampak ( <i>Visible</i> )..... | 250 |
|---|-----|

|   |     |
|---|-----|
| Riska Prasetiawati, Muhammad Subhan ..... | 250 |
|---|-----|

|   |            |
|---|------------|
| <b>Optimasi Reaksi Derivatisasi Enalapril Dengan 1- Fluoro 2,4 Dinitro Benzen Secara Spektrofotometri Serta Kondisi Optimum Analisisnya Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi .....</b> | <b>254</b> |
|---|------------|

|   |            |
|---|------------|
| <b>Ririn Sumiyani, Kusuma Hendrajaya, Harry Santosa, Bernadus Singgih Pranoto, Tommy Gunawan, Amelia Fransiska Muslim .....</b> | <b>254</b> |
|---|------------|

|  |     |
|--|-----|
| Analisis Cemarkan Logam Timbal dan Kadmium Dari Buah Kurma ( <i>Phoenix dactilyferal.</i> ) Pada Wadah Terbuka Dan Tertutup Secara Spektrofotometri Serapan Atom ..... | 260 |
|--|-----|

|  |     |
|--|-----|
| Yunahara Farida, Mudrikawati Irfani..... | 260 |
|--|-----|

|                      |     |
|----------------------|-----|
| INDEKS PENULIS ..... | 266 |
|----------------------|-----|

|                        |     |
|------------------------|-----|
| INDEKS KATA KUNCI..... | 268 |
|------------------------|-----|

## Optimasi Reaksi Derivatisasi Enalapril Dengan 1- Fluoro 2,4 Dinitro Benzen Secara Spektrofotometri Serta Kondisi Optimum Analisisnya Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Ririn Sumiyani<sup>1\*</sup>, Kusuma Hendrajaya<sup>1</sup>, Harry Santosa<sup>2</sup>, Bernadus Singgih Pranoto<sup>3</sup>, Tommy Gunawan<sup>3</sup>, Amelia Fransiska Muslim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bagian Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya, INDONESIA

<sup>2</sup>Bagian Kimia Organik Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya, INDONESIA

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya, INDONESIA

\*Email korespondensi: ririn\_sum@staff.ubaya.ac.id

### ABSTRAK

**Latar belakang:** enalapril merupakan obat hipertensi pilihan utama; pada kondisi tertentu diperlukan monitoring kadar enalapril dalam darah pasien, oleh sebab itu diperlukan metode analisis enalapril yang sensitive untuk mendeteksi enalapril dalam kadar rendah. Selain itu, enalapril termasuk golongan obat yang harus mempunyai uji Bioekivalensi.

**Tujuan:** metode yang direkomendasikan untuk uji Bioekivalensi adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi–spektra masa (KCKT-SM). Instrumen analisa tersebut sensitive dan akurat tetapi harganya relative mahal, sehingga perlu dicari metode analisa alternative yang lebih murah. Mengingat enalapril merupakan senyawa dengan gugus kromofor rendah, penetapan kadarnya secara KCKT–UV-Vis perlu ditingkatkan sensitivitasnya.

**Metode:** penelitian ini melaporkan pemilihan metode uji alternative enalapril secara KCKT-MS. Optimasi reaksi enalapril dengan 1-Fluoro 2,4 Dinitro Benzen (FDNB) secara spektrofotometri untuk meningkatkan sensitivitas enalapril turut dilakukan. Faktor-faktor yang mempengaruhi reaksi dengan FDNB seperti pH reaksi, kondisi reaksi, waktu reaksi dan suhu reaksi diteliti. Kondisi analisis secara KCKT: komposisi, pH dan laju alir fase gerak juga turut di optimasi.

**Hasil penelitian:** hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa derivatisasi enalapril dengan FDNB terbukti dapat meningkatkan sensitivitas enalapril; sehingga dapat dianalisis dalam kadar rendah menggunakan KCKT-UV-Vis.

**Kesimpulan:** kondisi optimum reaksi derivatisasi enalapril dengan FDNB adalah : pH reaksi dapat borat pH 11,0 waktu ultrasonik 20 menit, suhu 65 menit selama 10 menit. Sedangkan kondisi KCKT optimum digunakan Vydac 218 MS ODS dengan komposisi fase gerak dapat asetat (0,01 M pH 5,0): metanol: asetonitril = 70:15:15 (v/v/v), dan laju alir 1,2 mL/menit.

**Kata kunci:** derivatisasi, enalapril, FDNB

### PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan penyakit yang tidak dapat diabaikan, karena prevalensinya yang cukup tinggi, yaitu 25,8% (Risesda<sup>1</sup>). Obat antihipertensi Inhibitor ACE contohnya lisinopril dan enalapril merupakan pilihan utama pada

pengobatan hipertensi dan obat ini menurut (BPOM<sup>2</sup>) harus mempunyai uji bioekialensi. Uji bioekivalensi yang biasa dilakukan memakai *High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectra* (HPLC-MS) (Bischoff, *et. al*<sup>3</sup>) yang merupakan metode yang



sensitiv akurat tapi harganya sangat mahal, sehingga tidak semua laboratorium memilikinya, oleh karena itu perlu dikembangkan metode lain yang lebih murah misalnya Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)-detektor UV-Vis. Lisinopril dan enalapril didaerah UV-Vis mempunyai serapan rendah karena mempunyai gugus kromofor minim, oleh karena itu analisis secara spektrofotometri perlu dilakukan derivatisasi dengan senyawa penderivat untuk membentuk suatu senyawa yang berfluoresensi atau ditambah gugus kromofor sehingga sensitivitasnya meningkat (El Gindy., *et. al*<sup>4</sup>).

Analisis lisinopril secara spektrofotometri menggunakan 1-Fluoro 2,4 Dinitro Benzen (FDNB) telah dilakukan Paraskevas., *et.al*<sup>5</sup>, didapatkan bahwa akurasi dan presisi metode memenuhi persyaratan validasi. Penelitian Sumiyani dkk<sup>6</sup> melaporkan bahwa untuk reaksi derivatisasi lisinopril, gabapentin, enalapril, amlodipin dan metoprolol dengan FDNB, menggunakan pelarut metanol lebih efektif dari pada pelarut akuades. Selanjutnya penelitian Sumiyani dkk<sup>7</sup>, yaitu analisis lisinopril secara *Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)* melalui derivatisasi dengan FDNB, menggunakan kolom Acquity BEH C<sub>18</sub> dan fase gerak bufer asetat (0,01 M, pH 3,5) : asetonitril : metanol = 70 : 10 : 20 (v/v/v) pada  $\lambda$  296,0 nm, memenuhi persyaratan validasi.yaitu linieritas lisinopril pada rentang 5,0-100,0 ng/mL ( $r^2 = 0,9987$ ), rekovery 88,59 $\pm$ 6,01–101,70 $\pm$ 2,56% dan nilai RSD 2,57-8,16 %. Batas deteksi instrumen = 0,73 ng/mL dan batas kuantitasi 2,44 ng/mL. Metode ini juga disimpulkan mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sebagai metode alternative, selain penentuan kadar lisinopril dalam *spiked* plasma secara HPLC-MS, meskipun masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Enalapril mempunyai struktur yang

mirip dengan lisinopril, perbedaannya adalah lisinopril mempunyai gugus amin primer yang bereaksi dengan FDNB, sedangkan pada enalapril yang bereaksi dengan FDNB adalah gugus amin sekunder. Telah dibuktikan bahwa enalapril juga bereaksi dengan FDNB membentuk senyawa derivat yang lebih sensitive dibandingkan senyawa asal (Sumiyani dkk<sup>7</sup>). selain itu enalapril juga termasuk obat prioritas yang harus mempunyai uji bioekivalensi (BPOM<sup>2</sup>), oleh karena itu perlu diteliti juga, apakah penentuan kadar enalapril dalam *spiked* plasma melalui derivatisasi dengan FDNB mempunyai potensi sebagai metode alternative pengganti HPLC-MS. Pada penelitian ini baru dilakukan langkah awal dari serangkaian penelitian yang diperlukan untuk validasi metode penetapan kadar enalapril melalui derivatisasi dengan FDNB secara KCKT. Reaksi derivatisasi enalapril dengan FDNB dipengaruhi beberapa parameter, antara lain: waktu optimum homogenitas secara ultrasonik antara enalapril dengan FDNB, pH optimum dapar borat, suhu optimum reaksi, dan waktu pemanasan optimum. Selain itu ditentukan kondisi optimum untuk analisis dengan HPLC yaitu komposisi fase gerak, pH dan laju alir fase gerak. Pada penelitian ini parameter-parameter tersebut ditentukan untuk mengawali penelitian selanjutnya yaitu optimasi dan validasi penentuan kadar enalapril dalam *spiked* plasma melalui derivatisasi dengan FDNB secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada analisis selanjutnya digunakan KCKT, oleh karena itu pada penelitian ini juga ditentukan kondisi optimum KCKT yaitu: perbandingan fase gerak, pH dan laju alir fase gerak. Penelitian ini bertujuan menentukan kondisi optimum reaksi enalapril dengan FDNB secara spektrofotometri, dengan parameter pH, kondisi reaksi, waktu dan suhu reaksi. Tujuan selanjutnya adalah mencari

sensitiv akurat tapi harganya sangat mahal, sehingga tidak semua laboratorium memilikinya, oleh karena itu perlu dikembangkan metode lain yang lebih murah misalnya Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)-detektor UV-Vis. Lisinopril dan enalapril didaerah UV-Vis mempunyai serapan rendah karena mempunyai gugus kromofor minim, oleh karena itu analisis secara spektrofotometri perlu dilakukan derivatisasi dengan senyawa penderivat untuk membentuk suatu senyawa yang berfluoresensi atau ditambah gugus kromofor sehingga sensitivitasnya meningkat (El Gindy., *et. al*<sup>4</sup>).

Analisis lisinopril secara spektrofotometri menggunakan 1-Fluoro 2,4 Dinitro Benzen (FDNB) telah dilakukan Paraskevas., *et.al*<sup>5</sup>, didapatkan bahwa akurasi dan presisi metode memenuhi persyaratan validasi. Penelitian Sumiyani dkk<sup>6</sup> melaporkan bahwa untuk reaksi derivatisasi lisinopril, gabapentin, enalapril, amlodipin dan metoprolol dengan FDNB, menggunakan pelarut metanol lebih efektif dari pada pelarut akuades. Selanjutnya penelitian Sumiyani dkk<sup>7</sup>, yaitu analisis lisinopril secara *Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)* melalui derivatisasi dengan FDNB, menggunakan kolom Acquity BEH C<sub>18</sub> dan fase gerak bufer asetat (0,01 M, pH 3,5) : asetonitril : metanol = 70 : 10 : 20 (v/v/v) pada  $\lambda$  296,0 nm, memenuhi persyaratan validasi, yaitu linearitas lisinopril pada rentang 5,0-100,0 ng/mL ( $r^2 = 0,9987$ ), rekoveri  $88,59 \pm 6,01 - 101,70 \pm 2,56\%$  dan nilai RSD 2,57-8,16 %. Batas deteksi instrumen = 0,73 ng/mL dan batas kuantitasi 2,44 ng/mL. Metode ini juga disimpulkan mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sebagai metode alternative, selain penentuan kadar lisinopril dalam *spiked* plasma secara HPLC-MS, meskipun masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Enalapril mempunyai struktur yang

mirip dengan lisinopril, perbedaannya adalah lisinopril mempunyai gugus amin primer yang bereaksi dengan FDNB, sedangkan pada enalapril yang bereaksi dengan FDNB adalah gugus amin sekunder. Telah dibuktikan bahwa enalapril juga bereaksi dengan FDNB membentuk senyawa derivat yang lebih sensitive dibandingkan senyawa asal (Sumiyani dkk<sup>7</sup>). selain itu enalapril juga termasuk obat prioritas yang harus mempunyai uji bioekivalensi (BPOM<sup>2</sup>), oleh karena itu perlu diteliti juga, apakah penentuan kadar enalapril dalam *spiked* plasma melalui derivatisasi dengan FDNB mempunyai potensi sebagai metode alternative pengganti HPLC-MS. Pada penelitian ini baru dilakukan langkah awal dari serangkaian penelitian yang diperlukan untuk validasi metode penetapan kadar enalapril melalui derivatisasi dengan FDNB secara KCKT. Reaksi derivatisasi enalapril dengan FDNB dipengaruhi beberapa parameter, antara lain: waktu optimum homogenitas secara ultrasonik antara enalapril dengan FDNB, pH optimum dapar borat, suhu optimum reaksi, dan waktu pemanasan optimum. Selain itu ditentukan kondisi optimum untuk analisis dengan HPLC yaitu komposisi fase gerak, pH dan laju alir fase gerak. Pada penelitian ini parameter-parameter tersebut ditentukan untuk mengawali penelitian selanjutnya yaitu optimasi dan validasi penentuan kadar enalapril dalam *spiked* plasma melalui derivatisasi dengan FDNB secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada analisis selanjutnya digunakan KCKT, oleh karena itu pada penelitian ini juga ditentukan kondisi optimum KCKT yaitu: perbandingan fase gerak, pH dan laju alir fase gerak. Penelitian ini bertujuan menentukan kondisi optimum reaksi enalapril dengan FDNB secara spektrofotometri, dengan parameter pH, kondisi reaksi, waktu dan suhu reaksi. Tujuan selanjutnya adalah mencari

kondisi optimum analisis hasil derivatisasi enalapril dengan FDNB secara KCKT dengan parameter: komposisi, pH dan laju alir fase gerak.

## METODE

### Pembuatan Larutan standar

Ditimbang 50,0 mg Enalapril maleat dilarutkan dalam metanol sampai 50,0 mL didapatkan larutan induk pada kadar 1000,0 bpj. Larutan FDNB dibuat pada kadar 0,0032 M dengan pelarut asetonitril. Dapar borat 0,125 M yang mengandung KCl 0,125 M, dibuat dengan menimbang  $H_3BO_3$  dan KCl yang sesuai dan dibuat pH yang diinginkan dengan NaOH 1,0 M dan diukur dengan pH meter (dibuat pH 8; 8,5; 9,0; 9,5; 10,0; 10,5; 11,0; 11,5 dan 12,0).

### Derivatisasi Enalapril dan penentuan panjang gelombang maksimum

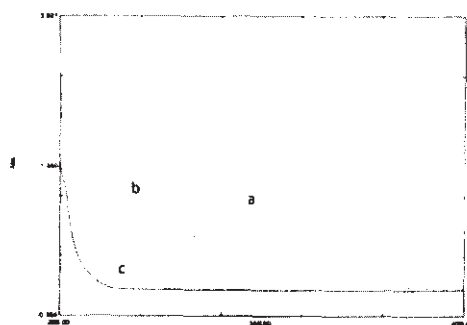
Dipipet 100,0  $\mu$ L Enalapril ditambah 500  $\mu$ L buffer borat ditambah 300,0  $\mu$ L FDNB dan 2,1 mL asetonitril, dihomogenkan kemudian dipanaskan

pada 70°C selama 25 menit. Larutan yang dihasilkan didinginkan, ditambah 100  $\mu$ L HCl 0,1 N dan ditambah asetonitril hingga 5,0 mL. Larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 200–600 nm. Cara yang sama digunakan untuk optimasi pH, suhu reaksi dan waktu reaksi sehingga kondisi optimum reaksi derivatisasi Enalapril dan FDNB didapatkan.

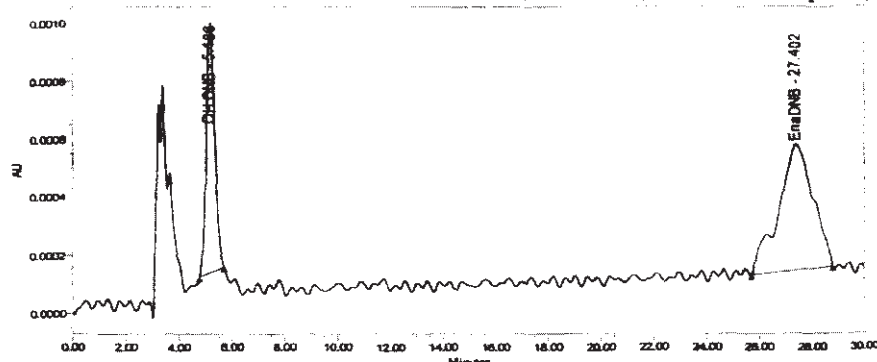
### Pembuatan fase gerak dengan komposisi hasil optimasi.

Fase gerak terdiri dari buffer asetat (0,01 M, pH 3,5):Asetonitril: MeOH = 60:20:20; 65:17,5: 17,5 dan 70:15:15 (v/v/v) pada laju alir 1,0 mL/menit. Komposisi fase gerak optimum yang didapatkan selanjutnya dilakukan optimasi pH. pH yang diujikan adalah pH 3,5; pH 4,5 dan pH 5,5 dan laju alir 1,0 mL/menit. Setelah itu dilakukan optimasi laju alir 0,8; 1,0 dan 1,2 mL/menit.

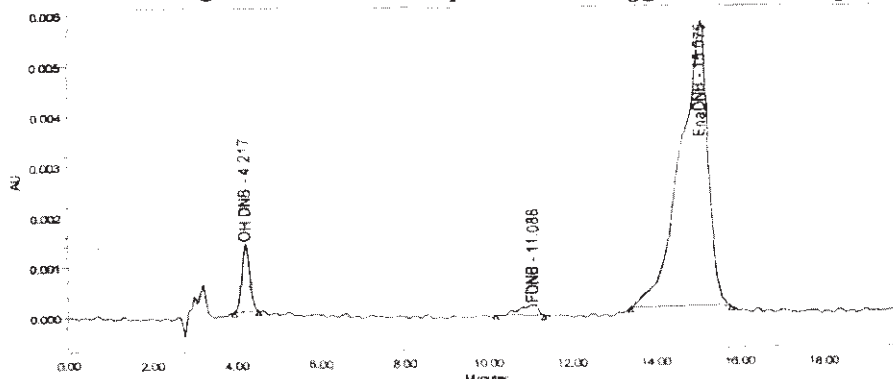
## HASIL PENELITIAN



Gambar 1. Spektrogram Enalapril-DNB (a), FDNB (b) dan Enalapril (c).



**Gambar 2. Kromatogram analisis Enalapril-DNB menggunakan Nova-pak® ODS.**



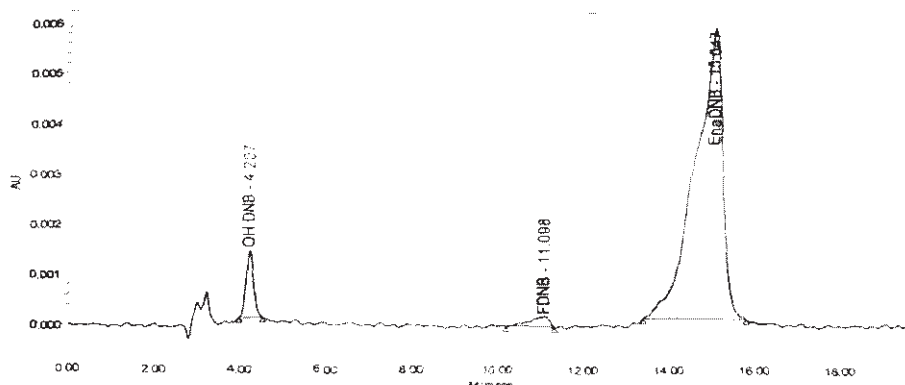
**Gambar 3. Kromatogram analisis Enalapril-DNB menggunakan Vydac 218MS ODS.**

**Tabel 1. Hasil Optimasi Komposisi Fase Gerak**

| Komposisi Fase Gerak (v/v/v) | Area Enalapril-DNB | R <sub>t</sub> Enalapril-DNB (min) | Resolusi <sup>a</sup> | Σ Lempeng Teoritis (N) | Keterangan     |
|------------------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------|
| 60:20:20                     | 251,251            | 8,011                              | 2,434                 | 2523,719               | Kurang optimum |
|                              | 251,480            | 8,012                              | 2,322                 | 2384,393               |                |
| 65:17,5:17,5                 | 263,575            | 10,824                             | 2,748                 | 2170,628               | Kurang optimum |
|                              | 265,313            | 10,775                             | 2,889                 | 2435,264               |                |
| 70:15:15                     | 260,611            | 15,047                             | 3,361                 | 2397,771               | <b>OPTIMUM</b> |
|                              | 261,044            | 15,075                             | 3,834                 | 2318,806               |                |

<sup>a</sup>Resolusi enalapril-DNB terhadap FDNB

Fase Gerak: Bufer Asetat 0,1 M pH 5,0 : Metanol: Asetonitril



**Gambar 4. Kromatogram Enalapril-DNB pada komposisi fase gerak larutan dapar asetat (0,01 M, pH 5,0): Metanol: Asetonitril = 70:15: 15 (v/v/v) dengan laju alir 1,0 mL/menit.**

**Tabel 2. Hasil Optimasi pH Fase Gerak**

| Komposisi Fase Gerak (v/v/v) | Area Enalapril-DNB | R <sub>t</sub> Enalapril-DNB (min) | Resolusi <sup>a</sup> | Σ Lempeng Teoritis (N) | Keterangan     |
|------------------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------|
| 4,0                          | 268,284            | 14,950                             | 3,997                 | 2210,587               | Kurang optimum |
|                              | 275,135            | 14,948                             | 3,975                 | 2242,059               |                |
| 5,0                          | 260,611            | 15,047                             | 3,562                 | 2402,099               | <b>OPTIMUM</b> |
|                              | 261,044            | 15,075                             | 3,834                 | 2322,991               |                |

<sup>a</sup>Resolusi enalapril-DNB terhadap FDNB

Fase Gerak: Bufet Asetat 0,1 M pH 5.0 : Metanol: Asetonitril

Tabel 3. Hasil Optimasi Pemilihan laju Alir Fase Gerak

| Laju Alir (mL/min) | Area Enalapril-DNB | R <sub>t</sub> Enalapril-DNB (min) | Resolusi <sup>a</sup> | Σ Lempeng Teoritis (N) | Keterangan |
|--------------------|--------------------|------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------|
| 0,8                | 356,251            | 18,011                             | 3,434                 | 2300,719               | OPTIMUM    |
|                    | 326,480            | 18,012                             | 4,322                 | 2363,393               |            |
| 1,0                | 260,575            | 15,824                             | 3,748                 | 2402,628               |            |
|                    | 261,313            | 15,775                             | 3,889                 | 2322,264               |            |
| 1,2                | 267,627            | 12,047                             | 3,072                 | 2051,771               |            |
|                    | 267,219            | 12,075                             | 3,471                 | 2006,806               |            |

<sup>a</sup>Resolusi enalapril-DNB terhadap FDNB

## PEMBAHASAN

Sebagai obat hipertensi pilihan utama, kadar enalapril dalam darah pasien perlu dimonitor. Oleh sebab itu diperlukan metode analisis enalapril yang sensitive untuk mendeteksi enalapril dalam kadar rendah. Saat ini hanya metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi – spektra masa (KCKT-SM) yang direkomendasikan untuk uji Bioekivalensi walaupun instrumen tersebut memiliki sensitivitas dan keakuratan yang tinggi, namun biaya investasi dan operasinya relative mahal, sehingga perlu dicari metode analisa alternative yang lebih murah.

Telah diketahui enalapril mempunyai struktur yang mirip dengan lisinopril. Lisinopril memiliki gugus amin primer sedangkan pada enalapril adalah gugus amin sekunder. Sehingga keduanya dapat bereaksi dengan baik dengan 1-Fluoro 2,4 Dinitro Benzen (FDNB). Enalapril bereaksi baik dengan FDNB membentuk senyawa derivate, enalapril-DNB, yang lebih sensitive dibandingkan senyawa asal (7). Penelitian ini bertujuan menentukan kondisi optimum reaksi enalapril dengan FDNB secara spektrofotometri, dengan parameter pH, kondisi reaksi, waktu dan suhu reaksi. Tujuan selanjutnya adalah mencari kondisi optimum analisis hasil derivatisasi enalapril dengan FDNB secara KCKT dengan parameter: komposisi, pH dan laju alir fase gerak.

Spektra hasil reaksi derivatisasi enalapri dengan FDNB (**Gambar 1**) menunjukkan adanya reaksi derivatisasi Enalapril-DNB. Terdapat pergeseran panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maksimum) Enalapril-DNB (**Gambar 1, spektogram a**) yang lebih besar dari  $\lambda$  maksimum Enalapril dan FDNB (**Gambar 1, spketogram b dan c**); adanya tambahan gugus khromofor pada Enalapril. Selain itu, kondisi optimum reaksi derivatisasi terjadi pada larutan borat (pH = 11,0), pengadukan elektronik 20 menit, suhu 65°C selama 10 menit. Setelah didapatkan kondisi optimum reaksi derivatisasi, kondisi analisisnya secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yaitu komposisi fase gerak, pH fase gerak, dan laju alir juga turut di optimasi. Terlebih dahulu ditentukan kolom KCKT yang mampu memisahkan hasil derivatisasi. Kolom yang diteliti dalam studi ini adalah: Nova-pak® ODS, Vydac 218 MS ODS dan LisoChrospher® ODS dengan fase gerak larutan dapar asetat (0,01 M, pH = 5,6):MeOH:CAN = 70:15:15 (v/v/v) pada  $\lambda$  296,0 nm dan aju alir 1,0 mL/min.

Nova-pak® ODS memberikan waktu retensi (R<sub>t</sub>) Enalapril DNB = 27,402 menit dan total waktu analisis 30 menit (**Gambar 2**). Sedangkan Vydac 218 MS ODS berhasil memisahkan enalapril-DNB dengan waktu analisis lebih singkat, (R<sub>t</sub>) Enalapril DNB = 15,047 menit, dan total waktu analisis 20 menit (**Gambar 3**). Namun, kolom



LisoChrospher®ODS tidak dapat memisahkan Enalapril-DNB. Oleh karena itu, Vydac 218MS ODS dipilih untuk tahap berikutnya, optimasi komposisi fase gerak.

Optimasi fase gerak dilarutkan dengan memvariasikan komposisi fase gerak larutan bufer asetat (0,01 M, pH 5,0):asetonitril:metanol pada variasi: 60:20:20; 65: 17,5:17,5 dan 70:15:15 (v/v/v) pada  $\lambda$  296,0 nm. Hasil optimasi ditunjukkan pada **Tabel 1** dan kromatogramnya pada **Gambar 4**. Disimpulkan kondisi terbaik analisis enalapril-DNB pada komposisi fase gerak larutan dapar asetat (0,01 M, pH 5,0):MeOH:ACN = 70:15:15 (v/v/v) (**Tabel 1**). Setelah itu, dilakukan optimasi pH fase gerak, diperoleh pH fase gerak optimum pH 5,0 (**Tabel 2**). Selanjutnya dilakukan optimasi laju alir (**Tabel 3**), optimum optimum pada 1,2 mL/ menit.

#### KESIMPULAN

Reaksi derivatisasi Enalapril dan FDNB optimum pada kondisi pH borat 11,0 dengan pengadukan elektronik selama 20 menit, setelah itu dipanaskan pada suhu 65°C selama 10 menit, dan kondisi optimum analisis dengan KCKT adalah menggunakan kolom Vydac 218MS ODS dengan komposisi fase gerak (dapar asetat 0,01 M pH 5,0: Metanol: Asetonitri) 70:15: 15 v/v/v dan laju alir 1,2 mL/ menit.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2014, Riset Kesehatan Dasar 2013, Jakarta, hal ix.
2. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM

- RI), 2011, *Obat Wajib Uji Bioekuivalensi*, Jakarta.
3. Bischoff, R., Hopfgartner, T., Karnes, H. T., Lloyd, D. K., 2007, Summary of a recent workshop/conference report on validation and implementation of bioanalytical methods, *Journal of Chromatography B*, **860**, 1–3.
4. El-Gindy, A., Ashour, A., Abdel Fattah, L., Shabana, M.M., 2001. Spectrophotometric, Spectrofluorometri and LC determination of lisinopril, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **25**, 913-922.
5. Paraskevas, G., Atta-Politou, J., Koupparis, M. 2002. Spectrophotometric determination of lisinopril in tablets using 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene reagent, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **29**, 865-872.
6. Sumiyani, Ririn., Martono, Sudibyo., Sugiyanto., 2016, Pengaruh pelarut pada reaksi derivatisasi lisinopril dengan 1-fluoro 2,4 dinitrobenzen serta pemilihan standar internalnya, *Majalah Media Pharmaceutica Indonesiana*, Volume 1, Nomor 1, hal.27-34.
7. Sumiyani, Ririn., Martono, Sudibyo., Sugiyanto., 2016, Validasi metode penetapan kadar lisinopril dalam spiked plasma secara Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) melalui derivatisasi dengan 1-fluoro 2,4 dinitrobenzen (FDNB), *Jurnal Farmasi Indonesia*, Volume 8, Nomor 1.